

## 2012 年度 修士論文要旨

## リンパ球の接着カスケードにおける Arrest 誘導の分子機構

関西学院大学大学院理工学研究科  
生命科学専攻 片桐研究室 石原 沙耶花

ナイーブリンパ球は血流を介して全身を循環し、リンパ節内で抗原を取り込んだ抗原提示細胞と相互作用することで免疫応答を開始する。リンパ球が血管からリンパ節内に移行する際の高内皮細静脈 (HEV) 上での接着カスケードにおける「停止」は、ケモカイン刺激によって 1 秒以内に生じ、血流に抵抗してリンパ球が HEV の血管内皮細胞にしっかりと接着するための第 1 ステップとして重要である。このステップには Rap1 によるインテグリン、LFA-1 の活性化が必須であるが、その制御機構は明らかにされていない。先行研究においてリンパ球の停止接着に重要な役割を果たす LFA-1 の  $\beta 2$  鎖の細胞内領域に変異を導入した実験より、 $\beta 2$  鎖の細胞内領域に抑制分子が結合していることが示唆されている。この抑制分子の候補として細胞骨格系タンパク質 Filamin (FLN) の停止接着への関与を検討し、さらに Rap1 による抑制解除のメカニズムについて検討した。

まず  $\beta 2$  鎖と FLN の会合実験によって、FLNa が  $\beta 2$  鎖の 758-760 番目のスレオニン依存性に結合することがわかった。次に、FLNa の停止接着への関与を検討するため、レンチウイルスを用いた RNA 干渉法により FLNa 及び FLNb をノックダウンし、血管内皮細胞上での接着反応を解析した結果、FLNa,b をノックダウンした細胞では、ケモカイン無刺激で、LFA-1 依存性の低速のローリングおよび停止接着の頻度の上昇がみられた。また、FLNa/b をノックダウンした細胞上の LFA-1 は活性化型へと構造変化していた。これらの結果から、FLN が LFA-1 の  $\beta 2$  鎖と会合することで LFA-1 の活性化を抑制していることが考えられる。

次に Rap1 による FLNa の  $\beta 2$  鎖抑制解除のメカニズムについて検討するため、Rap1 と FLN の会合を検討したところ FLNa の免疫グロブリン領域に活性化型の Rap1 が結合することがわかった。また活性化型 Rap1 が FLNa に結合すると、FLNa と  $\beta 2$  鎖の会合が低下すること、そしてケモカイン刺激でも FLNa と  $\beta 2$  鎖の会合が低下することがわかった。さらに Rap1 と FLNa の会合が停止接着に影響を与えるかを検討した。活性化型 Rap1 が結合できない、免疫グロブリン領域を欠損させた FLNa を導入した細胞を作製し、血管内皮細胞上での接着反応を調べると、ケモカインによって誘導される低速

のローリングおよび停止接着が抑制されることがわかった。

以上のことから、FLNa は $\beta 2$  鎖に結合し、LFA-1 の活性化を抑制する働きをしており、活性化型 Rap1 が FLNa に直接結合しこの抑制を解除することで、血管内皮細胞上での接着反応を制御していることが示唆された。